En: Patrimonio cultural: la gestión, el arte, la arqueología y las ciencias exactas aplicadas. Vázquez, Palacios y Ciarlo Editories.
Jornadas de Bienes Culturales. Comisión Nacional de Energía Atómica CNEA. Año 3: 11-20. Buenos Aires. 2013

SISTEMA DE CRIOPRESERVACIÓN DE LOS NIÑOS DEL LLULLAILLACO

Mario Bernaski[1] y Leonardo Mercado[2]

1. Gerencia de Criopreservación. Museo de Arqueología de Alta Montaña (mario@bernaski.com.ar).
2. Laboratorio de Criopreservación. Museo de Arqueología de Alta Montaña (lemmer@hotmail.com).

Resumen

El Complejo de Criopreservación se concibe ante la necesidad de preservar, estudiar y presentar al público en el Museo de Arqueología de Alta Montaña de Salta (MAAM), los cuerpos congelados de tres niños pertenecientes a la cultura Inca, recuperados en el volcán Llullaillaco (Salta, Argentina) en marzo de 1999.

Este trabajo aborda, en forma breve y general, las etapas posteriores al descubrimiento, relacionadas con la obtención de las condiciones de conservación ideales, teniendo en cuenta los tres estadíos claramente definidos por los que atravesaron estos cuerpos: los 500 años de entierro en la montaña y las condiciones ambientales que aseguraron su conservación, la etapa que va desde su descubrimiento hasta la modificación del sistema de enfardado en el año 2005, y la etapa final, desde ese año a la actualidad, vinculada con las condiciones atmosféricas en el sistema de criopreservación que mantienen en forma estable la dinámica de los cuerpos.

El desarrollo de este proyecto se inicia en el año 2001, teniendo en cuenta distintos factores que lo condicionaban, y que fueron agrupados en tres grandes corrientes:

1. Estudio de las condiciones del entorno.
2. Estudio de otros casos comparables.
3. Evaluación de los cuerpos.

Palabras Clave : *Criopreservación , Llullaillaco*.

Introducción

En marzo del año 1999, una expedición arqueológica consiguió recuperar de la cumbre del volcán Llullaillaco (ubicado en la cordillera salteña, en el límite con Chile), a 6739 msnm, los cuerpos de tres niños incas (que fueron denominados: Doncella, Niño y Niña del Rayo), acompañados por más de ciento setenta objetos que conformaron su acompañamiento mortuorio. El origen de todo este material esta relacionado con una ceremonia incaica conocida como *capacocha*, en donde se ofrendaba a los dioses lo mejor que se poseía, en la espera de un gesto de reciprocidad por parte de éstos.

La particularidad de este hallazgo arqueológico, reside en las características propias del estado de conservación, tanto de los cuerpos, como de los objetos enterrados junto a ellos

Se sabe que la mayoría de las culturas mantienen o mantuvieron un respeto especial por la muerte. Para muchas de ellas era un paso a otro estado de cosas (acaso un mundo superior). De esta forma, a lo largo de la historia se han aplicado al cuerpo humano diferentes técnicas para asegurar su permanencia en otra vida o lugar.

La técnica de conservación mas utilizada en nuestros días es la criogenia (*Crio* del griego *Kryos* que significa frío-hielo), que tiene que ver básicamente con la producción y utilización de bajas o ultrabajas temperaturas. La técnica criónica data de mediados del siglo XX y consiste en disminuir la temperatura de los órganos o tejidos del cuerpo humano, de forma que sus propiedades puedan conservarse con viabilidad por un período determinado de tiempo.

Así, el posible uso intencional del frío aplicado a cuerpos humanos por parte de culturas como la Inca, es posiblemente fruto de un conocimiento empírico de los mecanismos de conservación fundamentalmente de alimentos como el chuño y el charqui, por ejemplo (tubérculos y carne, respectivamente, disecados por acción del frío), haciendo de las condiciones físicas de alta montaña la base del mecanismo. Ambas, filosofía y técnica, perseguirían el mismo objetivo: la preservación.

De ese modo, y en base a los estudios pudimos conocer que (entre las variables más influyentes), un mayor tiempo de preservación depende de una menor temperatura, una menor transferencia de materia al medio y un bajo contenido de oxígeno. El balance de estas variables es la clave de la técnica de Criopreservación desarrollada y aplicada por nosotros.

Objetivo

Describir los aspectos analizados para encontrar las condiciones ideales de preservación de los Niños del Llullaillaco, y su posterior integración al diseño del sistema de criopresrevación con el que hoy cuenta el Museo de Arqueología de Alta Montaña (MAAM).

Metodología y Técnicas

La metodología y las técnicas implementadas en este proyecto se adecuaron a la necesidad de encontrar las condiciones atmosféricas ideales que compatibilizaran las tres corrientes contempladas en el proyecto de Criopreservación, con el acompañamiento de los eventuales cambios metodológicos y de control ejercidos sobre los Niños en cuanto a su dinámica, por lo que el ajuste de las condiciones de enfardado y la paulatina disminución de temperatura de conservación fueron los mas importantes ajustes previos a su disposición en el actual sistema de criopreservación.

Transferencia de materia y condiciones de conservación

Las tres vertientes que alimentaron la búsqueda de las condiciones ideales de conservación de los Niños del Llullaillaco fueron: el estudio del entorno en los sitios ceremoniales del Llullaillaco, el estudio de condiciones y metodologías de preservación de otros casos comparables en el mundo, y, finalmente, las condiciones de conservación interna de los cuerpos en base a los estudios histológicos y de imágenes. La búsqueda de la T°, % HR, y atmósfera ideales, debían tener en cuenta estas tres corrientes, a fin de compatibilizarlas con el hecho de que, además, los Niños del LLullaillaco debían periódicamente ser exhibidos al público.

Sobre el proceso físico-químico que ha llevado a cabo la naturaleza y el hombre sobre los cuerpos del Llullaillaco, y el conocimiento o no por parte de la cultura Inca de este mecanismo natural de conservación que les permitió conservar excepcionalmente estos cuerpos durante 500 años, luego de ser ofrendados a los dioses, logrando retardar los procesos de degradación propios de los tejidos orgánicos después de la muerte, es poco lo que se sabía.

Después de su extracción del Volcán, en 1999, sus descubridores y asesores dictaron las condiciones a las que se debían conservar los cuerpos, y se estableció una T^{o} de -13°C (esta T^{o}, sin embargo, se respetó hasta enero de 2005) y una HR de alrededor de 55% (Reinhard y Ceruti 2000). Estas condiciones, entendemos, se dictaron en base a esos

otros casos comparables existentes (que ya mencionáramos, y sobre los que volveremos en más de una oportunidad).

Este porcentaje de humedad relativa generaba un gradiente de alrededor de 10% respecto a las condiciones ambientales posteriormente medidas en la montaña (expediciones MAAM 2005 y 2006) que producían una transferencia de masa positiva del medio a los cuerpos. A esto se sumaba la experiencia transmitida por la Dra. Eliana Durán del Museo de Historia Natural de Santiago de Chile (MHNCH) con el Niño del cerro El Plomo. Todo lo dicho contribuyó a que se decidiera cambiar el tipo de cubierta protectora y se realizara el primer barrido de aire del interior del nuevo y estanco sistema de embalaje.

Los cuerpos, desde su llegada a Salta, se encontraban en condiciones de ganancia de humedad y estrés térmico, ya que los estudios que se les realizaban, aunque por términos de tiempo cortos (que rondaban los 10 minutos), se llevaban a cabo a temperaturas cercanas a los 10 °C, y las condiciones de % HR del entorno de los freezer, en donde se encontraban a -13°C, rondaba el 85 %. Así, el cambio más notable y mensurable era la variación en peso de los cuerpos, involucrando además cabellos y prendas.

El primer pesaje oficialmente registrado, según surge del informe de la Lic. Mirta Santoni, se lleva a cabo el 21 de junio de 2001, y lo realizan las Dras. Clara Abal y Constanza Ceruti, es decir, casi dos años después de que los Niños fueran descubiertos. Luego el primer pesaje patrón fue llevado a cabo por Miguel Xamena y Mario Bernaski, el 29 de enero de 2004; y el segundo el 21 de febrero de 2005. Durante este período se registró un aumento que promedia, según el caso, los 0.7 grs/día de ganancia de humedad en los cuerpos y atuendo.

Ahora bien, ante la certeza de la ganancia de humedad, se llevó a cabo la modificación en el enfardado de los cuerpos, teniendo en cuenta el análisis del seguimiento histórico de los cuerpos, la experiencia Chile, y los datos surgidos de la investigación de Bolzano (Informe Egarter Vigl 2005). Al cabo de seis meses (es decir, en julio de 2005) la teoría de detener la transferencia de materia, se vio plasmada en el pesaje MAAM del 25/07/2005 (Gráfico 2). A partir de esta estabilización de los cuerpos en cuanto a su ganancia de peso, se encararon los siguientes pasos: estudiar las condiciones del entorno natural en los sitios ceremoniales de la montaña, y realizar estudios histológicos y de conservación referentes a los Niños.

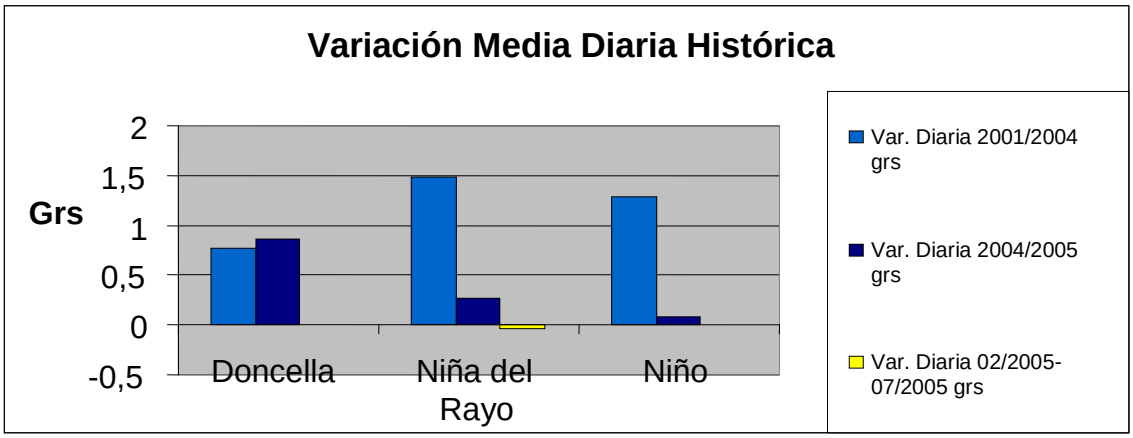


GRAFICO 1 : Registro de Variación Media Diaria en Grs de cada uno de los cuerpos
Fuente : Mario Bernaski Laboratorio MAAM

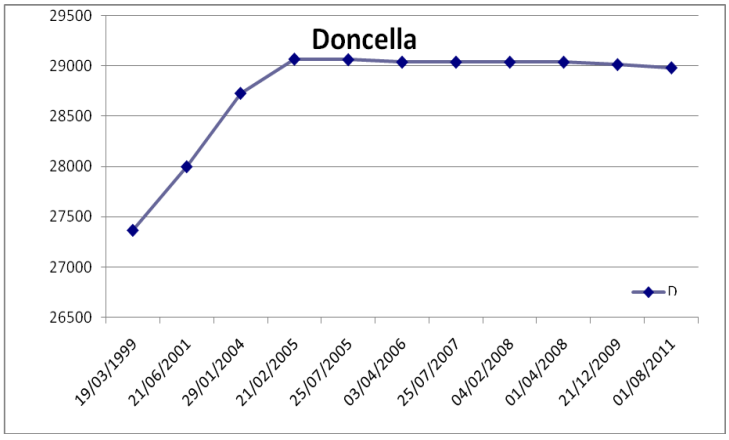


Grafico 2 a : Evolución peso Doncella , muestra mediante el uso de regresión matemática el periodo 2001-1999
Fuente : Mario Bernaski – Laboratorio MAAM

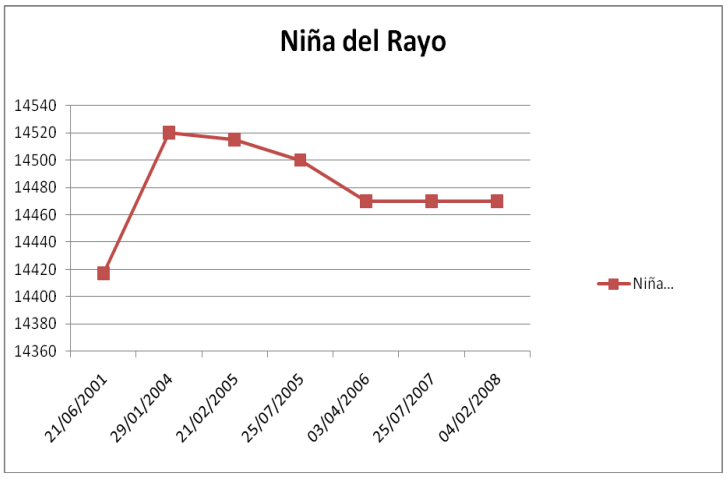


Grafico 2 b : Evolución peso (grs) Niña del Rayo
Periodo 2001-2008
Fuente : Mario Bernaski – Laboratorio MAAM

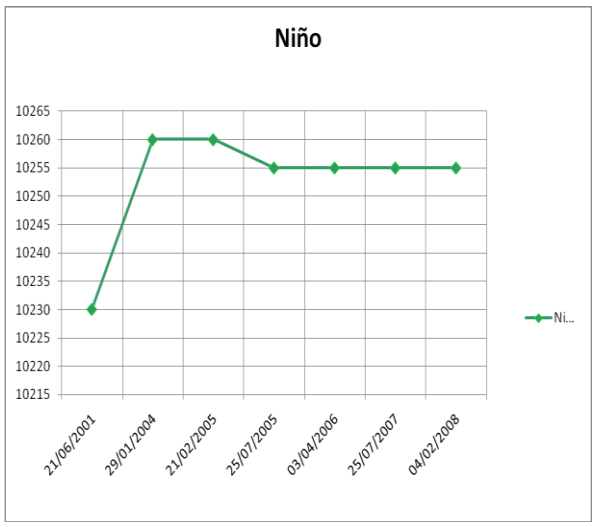


Grafico 2 c : Evolución de Peso (grs) del Niño Perido 2001-2008
Fuente : Mario Bernaski – Laboratorio MAAM

1. Estudio de las condiciones del entorno en los sitios ceremoniales

En el año 2005, se estableció un plan de registro de Tº y HR% en el sitio del hallazgo, adaptando tecnología de medición actual para su aplicación en altas cumbres (Figuras 1 y 2). Para su realización, se preparó y acondicionó en el laboratorio del MAAM, y posteriormente se entierró en la cima del volcán Llullaillaco, un sistema de Datalogger's.

Esta primera expedición al Volcán Llullaillaco se llevó a cabo con el objetivo de realizar mediciones físicas del entorno natural de los cuerpos. La misma fue dirigida por el Lic. Christian Vitry (MAAM), y buscaba, concretamente, medir Tº y HR% durante el transcurso de un año, a 0.8 mts de profundidad, haciendo lecturas cada cuatro horas. Asimiso, se realizó un muestreo de sedimento volcánico del interior excavado y se buscaron muestras de permafrost en las capas superiores, para realizar análisis bacteriológicos y de composición.
De este modo el MAAM abría así una puerta que permitiría a la comunidad científica internacional dilucidar los fenómenos físicos y químicos que mantuvieron a los cuerpos prácticamente intactos durante más de 500 años.

Figura 1

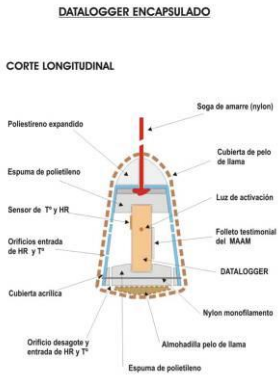


Figura 2

Procesamiento de los datos de la cumbre

Los datos recuperados fueron procesados en el laboratorio del MAAM y se graficaron según las estaciones del año (Gráfico 3). A su vez, estos datos se procesaron matemáticamente para determinar estabilidad de % HR y temperatura por estación del año (Gráfico 4).

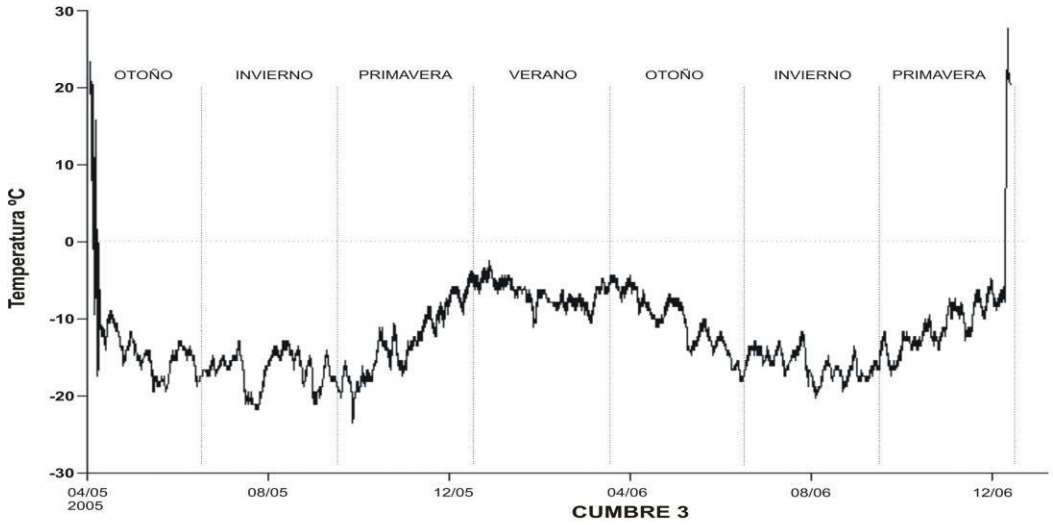


Grafico 3 : Grafica de T° Cumbre Llullaillaco - Expediciones MAAM 2004/2006

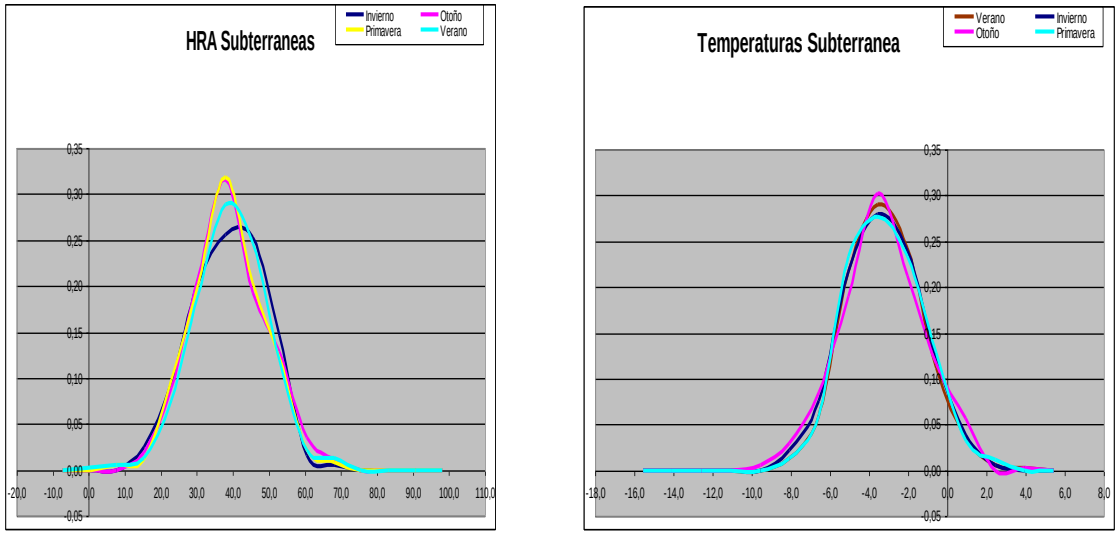


Grafico 4 - Fuente Laboratorio MAAM

Conclusión Parcial 1: Los datos recuperados en la montaña permiten visualizar estabilidad térmica, sin importar la estación del año. La temperatura media anual es -13° C. A esto se suma una concentración de oxígeno baja.

2. Estudio de otros casos comparables

El Niño del Cerro El Plomo (Chile)

En febrero de 1954 unos arrieros encontraron en un lugar cercano a la cumbre del cerro El Plomo (5430 msnm), frente a Santiago, Chile, el cuerpo congelado de un niño Inca de unos ocho años de edad que había sido ofrendado a los dioses ahí, como parte de una capacocha.

El cuerpo, debido a las características climáticas del lugar y a su condición de entierro (sin contacto o con contacto mínimo con el oxígeno) y congelamiento, se encontraba en perfecto estado.

Tanto su estructura ósea como su masa muscular, compacta y homogénea, se encontraban perfectamente intactas (sin presentar lesiones que permitieran suponer una muerto traumática) (Mostny et. al. 1957).

En su momento, los profesionales chilenos supieron desarrollar un sistema de conservación que les permitió generar una temperatura, humedad e iluminación constantes para poder garantizar la perdurabilidad del cuerpo a lo largo del tiempo.

La experiencia de Chile, con cincuenta años de conservación, fue vital para nosotros, sobre todo en lo referente a la estrategia de conservación que debíamos poner en práctica al momento no sólo de conservar los cuerpos de los Niños del Llullaillaco, sino también pensando en la posibilidad (concretada años después) de exhibirlos.

Actualmente, tanto el cuerpo del Niño como los objetos que lo acompañaban como pate de su ajuar mortuorio, se encuentran en el Museo de Historia Natural de Santiago, Chile.

Juanita, la dama de Ampato (Perú)

En 1995 el antropólogo estadounidense J. Reinhard detecto en uno de los límites del glaciar del Ampato (6380 msnm), cerca de Arequipa, al sur de Perú, un bulto que, al ser limpiado dejaría entrever a uno de los cuerpos humanos congelados mejor conservados: el cuerpo de "Juanita", una jóven Inca de

aproximadamente catorce años de edad (Reinhard 1996, 2005).
A diferencia del niño de El Plomo (que habría muerto por hipotermia), Juanita presentaba una lesión en el cráneo (una fisura de 0.5 m en el parietal derecho) producida por el golpe certero, que le ocasionó la muerte.
Actualmente, Juanita se encuentra en el Museo Santuarios de Altura del Sur Andino, de la Universidad Católica Santa María de Arequipa, y es exhibida al público en una cámara frigorífica especialmente diseñada para tal fin, cerrada al vacío, y regulada por un sistema de congelamiento que permite generar una temperatura de alrededor de -19°C.

Otzi, el hombre de hielo

Se conoce con el nombre de Otzi al cuerpo de un hombre de aproximadamente 45 años de edad, pertenenciente a la Edad de Cobre (por lo tanto, de más de 5000 años de antiguedad) descubierto en setiembre de 1991 en los Alpes de Otzal, a unos 3200 msnm, en la frontera entre Austria e Italia.

Otzi fue muerto desangrado por un proyectil que se incrustó en su pulmón izquierdo, en una aparente disputa con otros individuos (dado que poseía en sus enseres sangre de otras cuatro personas más).

Su cuerpo se congeló rápidamente y permaneció en ese estado por miles de años, hasta que fuera descubierto, investigado (en Innsbruk, Austria) y depositado finalmente en el Museo de Arqueología de Tirol del Sur, Bolzano, Italia, donde se encuentra exhibido bajo las siguientes condiciones: -6°C. y 99% de humedad relativa; además el cuerpo es regado con agua destilada, cada dos meses, para continuar su proceso de congelamiento y garantizar sus óptimas condiciones de conservación.

Conclusión Parcial 2: De los tres casos estudiados se destacan la experiencia del Niño del Cerro El Plomo, en cuanto a la necesidad de trabajar sobre la oxidación de la mioglobina, a fin de evitar cambios de color en la piel. Del Juanita se rescato la noción de refrigeración y estabilidad térmica. De Ötzi, si bien sus condiciones de hallazgo como de

conservación a altos porcentajes de humedad, similares a los sectores glaciados donde se los encontró, no era nuestro caso, destacamos la infraestructura de áreas limpias y seguras en torno al cuerpo, y del uso de un sistema secundario de refrigeración que permite generar una linealidad en la temperatura.

3. Evaluación de las condiciones de los cuerpos

Las condiciones de los Niños del Llullaillaco fueron evaluadas desde su descubrimiento, en 1999. Para ello se realizaron análisis de ADN (por el Dr. Andrew S. Wilson), y de diagnóstico por imágenes (por el Dr**.** Carlos H. Previgliano) (fig. 6 a). Estos estudios si bien buscaban encontrar, entre los datos mas sobresalientes, información como filiación, etnias, estado interno de los órganos y presencia de patologías o traumatismos, nos dieron la base sobre la cual sistematizamos el análisis y los controles sobre los cuerpos mediante estudios más específicos.

El primero fue un examen de adipoceres mediante cromatografía y espectrometría de masa. El segundo fue la observación evolutiva del peso molecular del ADN en el período 2004-2008. Este último fue llevado adelante por la Dra. Angelique Corthals de Stoony Brooks University.

Los estudios histológicos son el último eslabón en el control de los Niños, ya que nos informan sobre el estado general de la dermis, el estado del colágeno y de las estructuras celulares desde las capas externas hasta las internas de la dermis. Se pudo verificar así que en el periodo analizado se produjeron pequeños cambios externos, que no se pueden determinar con exactitud, pero que suponemos que pudieron deberse a los cambios de temperatura en el laboratorio que disponía la UCS para su control (de -13°C en el interior de los freezers a temperaturas de 6 a 10°C en el exterior).

Este último punto generó la pregunta técnica de cómo medir el estrés térmico debido a las variaciones de T°, ya sea desde su hallazgo en la cima, su traslado a Salta, y su posterior permanencia en dependencias de la UCS. Así surgió la idea de realizar una termografía, una técnica que se mostraba no invasiva, capaz de graficar a temperaturas bajo cero los sectores de mayor absorción calórica y por ende de mayor estrés térmico y por lo tanto de mayor cuidado (Fig. 6 c).

Otro control que se sistematizó a partir de 2004 es el control de color, basados en la experiencia de Ötzi y El Plomo. Realizamos un seguimiento mediante fotografías de alta definición de sectores claves de los Niños (fig. 6 b), y paralelamente iniciamos tareas de medición mediante el uso de colorímetro digital optando por el uso de campos de color LBA y Munsel.

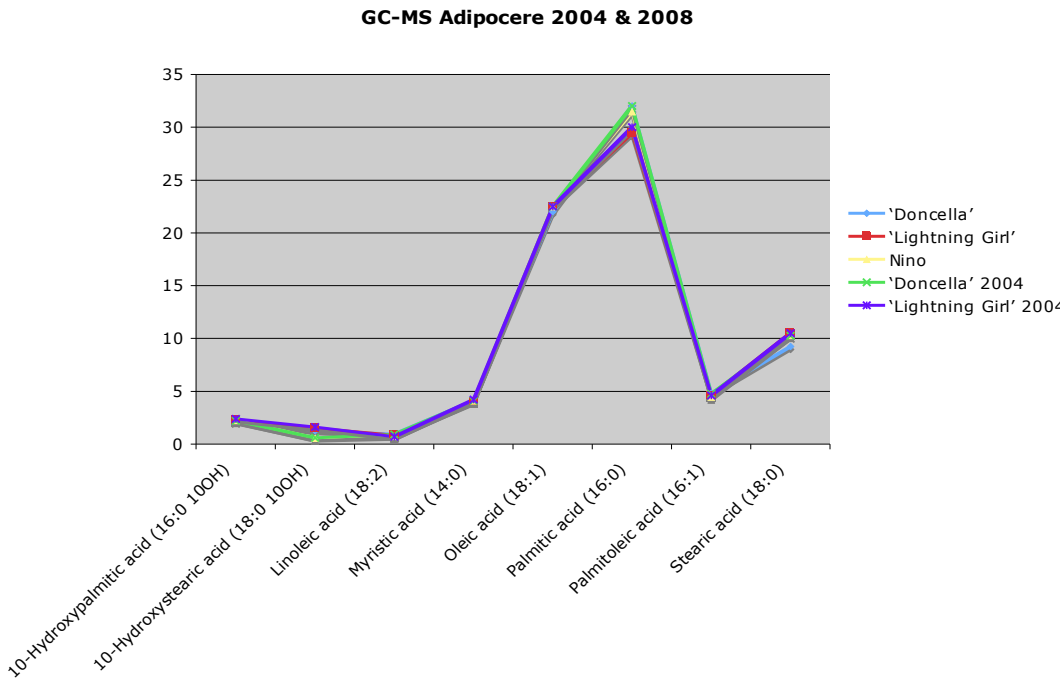


Grafico 5 – Curvas de Adipoceres de los Niños del Llullaillaco período 2004-2008
Nota: Los ácidos grasos del Niño no fueron medidos en 2004

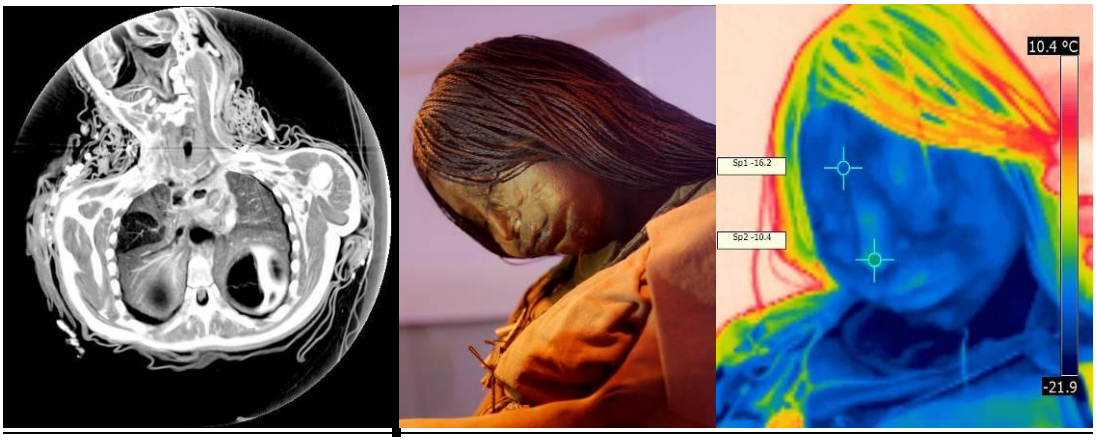


Fig. 7 – a CT Scan DrPrevigliano , tomgrafo salta 1999, b Lisa, c MAAM 2011

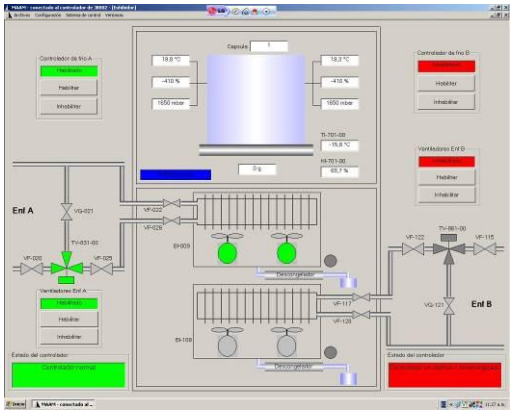
Conclusión Parcial 3: Esta etapa, acompañada por la etapa de análisis de transferencia de materia, dio como resultado la estabilidad interna de los cuerpos, la necesidad de extremar los cuidados disminuyendo el oxigeno en la atmósfera de la cápsula que los contuviera, el monitoreo sistematizado del color de la piel y la necesidad de iluminar los cuerpos, cuando fueran expuestos, con un sistema que asegurara la no emisión de rayos UV e IR.

El estudio de la dermis, por su parte, nos lleva a contar con un laboratorio de contención que garantice no solo asepsia sino también que las temperaturas internas no permitan nuevas descristalizaciones y recristalizaciones de los fluidos de los tejidos externos.

Integración de los datos al diseño

La evaluación de las condiciones en la montaña, del estado de conservación de los cuerpos y el hecho de haber aprendido de experiencias similares, nos permitió definir finalmente que el sistema de criopreservación debía suministrarnos:

- Confiabilidad y disponibilidad permanente.
- Temperatura estable (-20°C).
- Control permanente de peso (base balanza de apoyo de los cuerpos).
- Capacidad para modificar la atmósfera interior, disminuyendo la concentración de oxígeno al 2%.
- Sistema de iluminación sin emisión de rayos UV E IR.
- Ambito de estudio de los cuerpos a temperaturas bajo cero (-10°C).
- Posibilidad de modificación de presión interna de la cápsula.
- Redundancia de equipos frigoríficos, control y monitoreo.
- Monitoreo las 24 hs. del día, 365 días al año.
- Alimentación energética segura, disponiendo de dos grupos electrógenos de respaldo.
- Rotación de cuerpos.



Discusión

La montaña nos entregó datos que fueron tenidos en cuenta al momento del diseño (la temperatura media anual en el sector ceremonial, en la cumbre de la montaña, y a 80 cm de profundidad es de -13°C). Entendemos que la estabilidad de la misma fue un condicionante en la conservación, indicándonos que el sistema de refrigeración a implementar debía implementar un refrigerante secundario (etilenglicol + agua) a fin de no tener la sinusoide típica de todo sistema de refrigeración por expansión. A esto debíamos sumar que la presión parcial de oxígeno debía ser baja: 67 mm Hg (Reinhard y Ceruti 2000). Finalmente, era necesario compatibilizar estos datos con las experiencias de otros casos de momias congeladas, y con los estudios de los cuerpos de los Niños del Llullaillaco.

De los tres casos estudiados de momias congeladas podemos concluir que el Niño del Cerro El Plomo, con sus casi cincuenta años de congelamiento fuera de su tumba, fue clave, aportándonos el concepto de la oxidación de la mioglobina de la sangre, coincidente con la necesidad de modificar y enrarecer la atmósfera circundante. De la experiencia de Juanita tomamos la importancia de tener un sistema de frío indirecto, a fin de evitar la disecación de los cuerpos. De la experiencia de Ötzi, adoptamos

conceptos de equipamiento y seguridad bacteriológica en los sectores considerados áreas limpias o seguras.
Finalmente, de los estudios llevados a cabo en el período 2004-2008 por la Dra. Angelique Corthals y por el MAAM, llegamos a la conclusión que la condición ideal de la T^o para evitar descristalizaciones y posterioriores recristalizaciones de la epidermis y de las capas medias de la dermis, además de mostrarse como un umbral seguro, es de -20°C (esta temperatura ya había sido mencionada por el Dr. Arnaldo Arroyo quien realiza los estudios bacteriológicos a los cuerpos en 1999).

Conclusiones

Este complejo sistema de criopreservación y su laboratorio de contención a baja temperatura, sirven hoy como una herramienta para el estudio de los Niños del Llullaillaco.
La cápsula se constituye, según nuestra opinión, en el elemento más importante dentro del este sistema, ya que ésta es la que nos permitió mantener condiciones de equilibrio en su interior, fundamentalmente en lo referido a :

1. No contar con gradientes de humedad capaces de iniciar una transferencia de materia.
2. Poder manipular los cuerpos en forma encapsulada evitando así tensiones mecánicas sobre los tejidos.
3. Poder modificar su atmósfera según necesidad (adicionando nitrógeno, y evitando así la oxidación).
4. Poder modificar inclusive la presión atmosférica.

Créditos de las imágenes

Todas las imágenes pertenecen al Museo de Arqueología de Alta Montaña, salvo las de "El Niño del Cerro El Plomo", "Juanita" y "Ötzi", que fueron tomadas de la web.

Bibliografía

Egarter Vigl. 2005 (inédito). Informe Científico sobre la condición de las tres momias del Llullaillaco y propuestas para su preservación – Instituto de Patología Hospital Central - 39100 Bolzano Tyrol del Sur – Italia.

Mostny et al. 1957. La momia del Cerro El Plomo. Boletín del Museo Nacional de Historia Natural. Tomo XXVII, Nº1. Santiago, Chile.

Reinhard y Ceruti. 2000. Investigaciones arqueológicas en el volcán Llullaillaco. Complejo ceremonial incaico de alta montaña. Ediciones Universidad Católica de Salta. Salta.

Reinhard, Johan. 1996. Peru's Ice Maidens. *National Geographic*. 189(6) (Junio): 62-81. Washington, D.C.

Reinhard, Johan: 2005. *The Ice Maiden: Inca Mummies, Mountain Gods, and Sacred Sites in the Andes*. National Geographic Society, Washington, D.C.

Quevedo Silvia: 1999. Informe Preliminar estudio de Conservación de los Ejemplares momificados del volcán Llullaillaco . Santiago , Chile.